



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Vilka processer ligger bakom furiös och paralytisk form av rabies?

Med fokus på immunförsvarets roll hos hund, mus och människa.

Emilie Rogsmo Spiro



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:41

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Vilka processer ligger bakom furiös och paralytisk form av rabies?

Med fokus på immunförsvarets roll hos hund, mus och människa.

Which processes, focusing on the immune system, lead to the furious and the paralytic form of rabies in dogs, mice and humans?

Emilie Rogsmo Spiro

Handledare:

Mikael Berg, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, sekt för virologi

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2012

Omslagsbild: Mrs Barbara Andrews (G716, en.wikipedia)

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012:41
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Patogenes, immunkompetens, immunsuppression, paralytisk, furiös, mus, hund, människa, virus

Key words: Pathogenesis, immunocompetence, immunosuppression, paralytic, furious, mouse, dog, human, virus

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
ABSTRACT	2
INLEDNING	3
Symptom vid paralytisk form	4
Symptom vid furiös form	4
MATERIAL OCH METODER.....	4
LITTERATURÖVERSIKT	5
Prodromal fas.....	5
Diagnos.....	5
Teorier bakom patogenesen hos de båda formerna	5
<i>Viruslokalisering spelar ingen roll.....</i>	<i>5</i>
<i>Spridning via CNS.....</i>	<i>6</i>
<i>Vilka nerver/delar av CNS drabbas vid de olika rabiesformerna?.....</i>	<i>7</i>
Immunceller	8
<i>Immunkompetens påverkan på klinisk form av rabies.....</i>	<i>8</i>
<i>Immunosuppremering och påverkan på klinisk form av rabies</i>	<i>9</i>
<i>Immunrespons generellt vid furiös form.....</i>	<i>10</i>
<i>Immunrespons generellt vid paralytisk form.....</i>	<i>10</i>
<i>T-cellernas funktion.....</i>	<i>11</i>
<i>Antikroppar.....</i>	<i>12</i>
<i>NK-celler.....</i>	<i>12</i>
<i>Cytokiner.....</i>	<i>13</i>
DISKUSSION.....	13
Paralytisk form	13
<i>Mus.....</i>	<i>13</i>
<i>Människa.....</i>	<i>14</i>
<i>Hund.....</i>	<i>15</i>
Furiös form.....	15
<i>Mus.....</i>	<i>15</i>
<i>Människa.....</i>	<i>16</i>
<i>Hund.....</i>	<i>16</i>
Generellt.....	17
REFERENSLISTA.....	18

SAMMANFATTNING

Rabies kan delas in i två former, en paralytisk och en furiös form. Immunförsvaret spelar med största sannolikhet en roll vid paralytisk form hos mus, genom till exempel T-lymfocyter, och skador ses i både CNS och PNS. Hur dessa T-celler verkar är dock fortfarande oklart, men det har visats att ett intakt immunförsvaret ger den paralytiska formen hos mus. Vid avsaknad av paralytisk form hos mus, står antagligen viruset för de främsta skadorna, som finns i hjärnan, men immunsuppression bidrar också.

Hos människa visar studier tvetydiga resultat. Skador har setts både i CNS och PNS vid paralytisk form medan man vid furiös form har sett skador enbart i CNS. Om skadorna beror på virus eller immunsvaret är oklart. Hund visar skador i CNS vid paralytisk form och furiös form, men det saknas studier på ryggmärgen. Orsaken till dessa skador skulle kunna vara immunförsvaret vid de båda formerna och virus eller immunförsvaret vid furiös form, men detta är relativt outrett.

Det finns ett begränsat antal studier hos framförallt hund och människa, med ett begränsat antal individer, vilket försvårar en generell tolkning av resultaten. Dessutom kan diagnosticering av de olika fallen skilja sig. Detta avgör klassificeringen i de olika studierna, liksom även tidpunkten för undersökningen.

SUMMARY

Rabies can be divided into two different forms, the paralytic one and the furious one. The paralytic form in mice probably depends on the immune system, for example T-lymphocytes. The effect of the T-lymphocytes remains to be determined, but immuno-competence causes the paralytic form in mice. Abnormalities have been reported in both the CNS and the PNS. The virus is probably the main cause of the abnormalities seen in the brain of mice that lack paralysis. However, immuno-suppression also contributes to this form.

When it comes to humans, the results differ. Abnormalities have been shown in both the CNS and the PNS in the paralytic form but only in the CNS in the furious form. The cause remains unknown. Abnormalities have been reported in the CNS in both paralytic and furious dogs, but the spinal cord was not included in the studies. The causes of this might be the immune system in both forms and the virus itself or the immune system in furious dogs, but this has to be investigated further.

The number of studies and individuals regarding especially humans and dogs is limited. The diagnosis process and the time of investigation might differ among the studies made. This makes it hard to analyze the results to a general conclusion.

INLEDNING

Rabies är en världsomfattande sjukdom vars prevalens ökar i till exempel Kina (Hu et al., 2007), och är ett uttalat problem på många ställen i världen så som Asien, Afrika, vissa delar av Europa och Sydamerika (WHO Expert Consultation On Rabies, 2005). Jämfört med många andra sjukdomar, är prevalensen av rabies relativt låg, men det är en mycket fruktad sjukdom, eftersom den i de allra flesta fall oundvikligt leder till döden (Madhusudana & Sukumaran 2008). I Sverige har vi för tillfället inte rabies, men smittan knackar på vår dörr i och med det ökande importtrycket av bland annat hundar och den ökande tendensen till resande med djur i dagens samhälle (L. Treiberg Berndtsson, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, pers. medd. 2012-03-07).

Det finns två olika former av rabies: En paralytisk form och en furiös form (Ghosh et al. 2009; Madhusudana & Sukumaran 2008). Syftet med denna litteraturstudie är att ta reda på hur utredda de två formerna av rabies är (paralytisk och furiös form) och vad man vet om processerna som ligger till grund för de olika formerna, med huvudsakligt avseende på immunförsvarets roll hos hund, mus och människa. Anledningen till denna utredning är att det kan bli lättare att diagnosticera, vaccinera och förhindra spridning av rabies, om det finns kunskap om hur de olika formerna av rabies yttrar sig, vilka delar av kroppen som drabbas och vilka processer som ligger bakom de olika kliniska manifestationerna.

Människa drabbas av furiös form i de flesta fall (Madhusudana & Sukumaran, 2008; Mani et al., 2003) och av paralytisk form i endast 20-30% av fallen (Ghosh et al., 2009; Mahusudan & Sukumaran, 2008). Denna form kan förväxlas med Guillain Barrés syndrom (GBS) men exempel på skillnader mellan GBS och paralytisk form är urininkontinens, feber och en opåverkad sensorisk funktion vid paralytisk form (Madhusudan & Sukumaran, 2008). Tidpunkten då de kliniska symtomen yttrar sig till döden inträffar var hos de paralytiska humana patienterna längre än hos furiösa patienter (Hemachudha et al., 1988; Madhusudan & Sukumaran, 2008; (Mitrabhakdi et al., 2005). Inkubationstiden var dock kortare vid paralytisk form (Hemachudha et al., 1988).

Symptom vid paralytisk form

Mus: Paralys av extremiteter (Jackson et al., 1989; Park et al., 2006; Weiland et al., 1992) och symptom relaterade till det limbiska systemet syns här inte (Jackson et al. 1989). Hund: Paralys, salivering, obalanserad gång, annorlunda skall, inappetens (Manickam et al., 2008). Människa: Progressiv paralys (Ghosh et al., 2009; Madhusudan & Sukumaran 2008; Mitrabhakdi et al., 2005), myodem (Hemachudha et al., 1993), hydrofobi och andra furiösa symptom är ovanligt, men om de ses så är det i slutskedet vid denna form (Madhusudan & Sukumaran, 2008). Areflexi, koma (Mitrabhakdi et al., 2005), skiftande mellan upprördhet och lugn och högre medvetandegrad än hos furiösa patienter och paralys i respiratoriska muskler (Hemachudha et al., 1988).

Symptom vid furiös form

Mus: Drabbas kanske inte av limbiska symptom, utan av paralytisk form (Jackson & Reimer, 1989). Hund: Salivering, paralys, ökat skällande och låtande, tuggande på saker (Manickam et al., 2008). Människa: Feber, hyperaktivitet (Madhusudan et al., 2008), illamående, hydrofobi, aerofobi, hypersalivering, krampanfall, upprördhet (Ghosh et al., 2009), medvetslöshet i perioder (Madhusudan & Sukumaran, 2008), mest symptom som kan associeras med det limbiska systemet, ibland muskelsvaghet i extremitet med bett (Mitrabhakdi et al., 2005), till sist paralys av bland annat lungorna (Ghosh et al., 2009).

MATERIAL OCH METODER

Databassökning i Proquest med sökorden: (rabid OR rabies) AND (paralytic OR dumb) OR (furious OR encephalitic) pathogenesis; (rabies OR rabid) AND furious form AND paralytic form AND (canine OR dog* OR carnivor*). Dessutom lästes artiklar som studier refererar till och Louise Treiberg Berndtsson kontaktades, Statens Veterinärmedicinska Anstalt.

LITTERATURÖVERSIKT

Som tidigare nämnts finns det två olika former av rabies, den så kallade paralytiska och den furiösa formen. Många olika teorier om processerna bakom dessa två former finns och här tas några tänkbara teorier upp, hos mus, hund och människa, med fokus på immunförsvaret.

Prodromal fas

Hos en furiös patient och två paralytiska patienter (på humansidan), visade vid elektrofysiologiska tester att orsaken till de lokala neuropatiska symptomen, i form av parestesier, som de tre patienterna uppvisade, kunde vara ganglionopati i de dorsala nervrötterna, vilka är sensoriska. Dessa parestesier menade man var typiska för båda formerna av rabies. Slutsatsen drogs även att T-lymfocyter till stor del är orsaken bakom symptomen (Mitrabhakdi et al., 2005).

Diagnos

Det är lättare att diagnosticera den furiösa formen, eftersom den kan diagnosticeras med hjälp av symptom, medan den paralytiska formen kan kräva laboratorisk undersökning (Madhusudana & Sukumaran, 2008).

Teorier bakom patogenesen hos de båda formerna

Viruslokalisering spelar ingen roll

Viruslokalisering, vid obduktion, spelade ingen roll för vilken form av rabies som humana patienter utvecklade (Hemachudha et al., 1988; Mitrabhakdi et al. 2005).

Iwasaki et al. (1977) undersökte möss med avseende på virus och histopatologiska förändringar i delar av cerebrum, hypothalamus, thalamus och limbiska systemet (fig 1.).

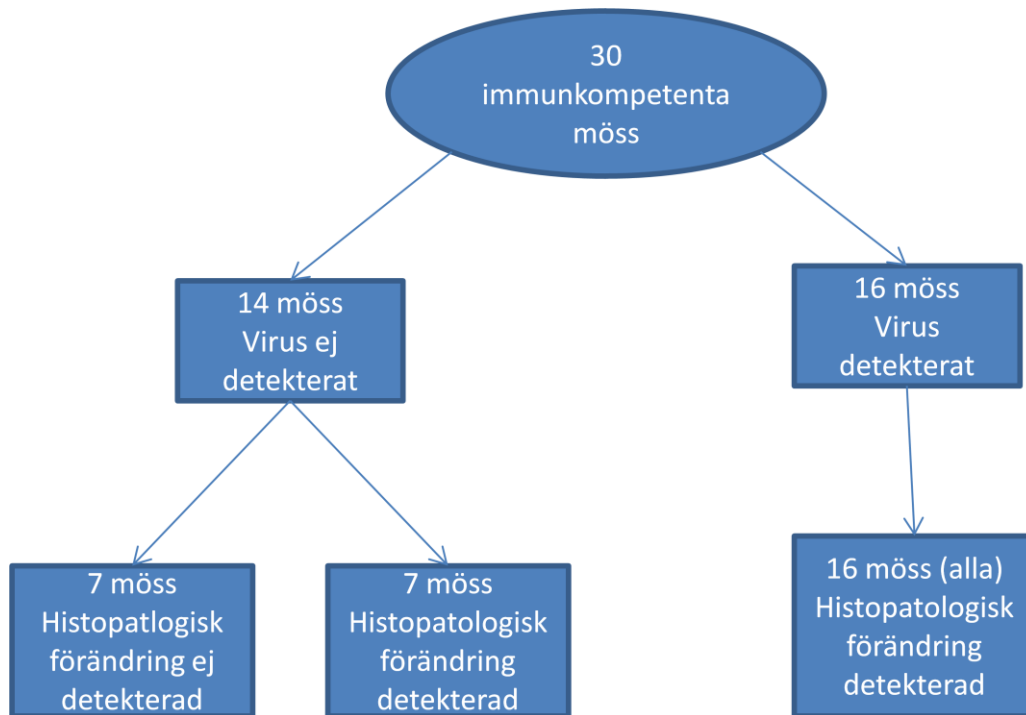


Fig 1: 30 immunkompetenta möss undersöktes med avseende på histopatologisk förändring (Iwasaki et al., 1977).

Spridning via CNS

På bettplatsen kan en initiell virusreplikation ske, vilket oftast sker. Från bettplatsen kan viruset, via nervceller, ta sig till hjärnan, där ytterligare replikation av viruset sker. I vissa fall kan viruset färdas direkt via nervceller, om en tillräckligt stor mängd nervändar på bettplatsen finns tillgängliga (Madhusudan & Sukumaran, 2008).

Vilka nerver/delar av CNS drabbas vid de olika rabiesformerna?

Vilka delar av CNS som drabbas och orsaken till dessa, kan spela en avgörande roll för patogenesen (tabell 1 och 2).

Tabell 1: Studier visar olika resultat angående djurslag, skador och immunsvaret vid paralytisk form.

Djurslag	Skador i hjärnan	Skador i ryggmärg och perifert	Immunsvaret	Studie
Mus	Förändringar i thalamus, hjärnstam, cerebellum, hjärnbark i sent skede, men inte i hippocampus	Vid intramuskulär injektion av CVS-11 i bakkensmuskulatur. Nedsatt funktion och nekros i infekterade ryggmärgsnerv, vilket ökar i utbredning med ökande symptom. Virusantigen även i lokal muskulatur, men inga skador i muskulatur	Cellinfiltration i muskulatur och ryggmärg	Park et al., 2006
Människa	Ej undersökt	Skadade motornervscellskroppar i ventralhorn/ motornervceller pga. demyelinisering	Intensivt i ryggmärgsrötter	Ghosh et al., 2009
	Ej undersökt	Nedsatt funktion i perifera nerver och nervrötter. Intakta motornervscellskroppar förutom i slutskedet hos en paralytisk patient	Orsak till den nedsatta funktionen	Mitrabhadri et al., 2005
	I vissa delar av hjärnan, t.ex. hippocampus, hjärnstam och i grå massa. Liknar skadorna vid furiös form	Abnormalitet i cervikala delar av ryggmärgen	Oklart	Laouamane et al., 2003
Hund	Samma ställen som hos människa i tidigt skede. Högre T2-abnormalitet än vid furiös form hos hund, trots lägre halt viralt RNA. Orsak enligt studien var en senare infektion än vid furiös form	Undersökning av ryggmärg saknas	Korrelation mellan T2-abnormalitet och immunsvaret fanns	Laouamane et al., 2008 & 2011

Tabell 2: Studier visar olika resultat angående djurslag, skador och virus vid furiös form.

Djurslag	Skador i hjärnan	Skador i ryggmärg och perifert	virus	Studie
Mus	Oklart om furiös form fås	-	-	Jackson & Reimer 1989
	Apoptos i cerebral cortex och hippocampus och mindre förändringar i hjärnstam, cerebellum, thalamus vid intracerebral injektion i storhjärnan med CVS-11, gav avsaknad av paralys men det är oklart om det är furiös form	Inga skador sågs i varken ryggmärg eller muskulatur	Infiltration av immunceller skedde efter apoptos och korrelation fanns mellan apoptos och virusantigenlokalisering	Park et al., 2006
Människa	Se tabell 2 (paralytisk)	Funktionsrubbing i ventralhornet. Avsaknad av muskelsvaghet trots en fokal denervering	Orsak till funktionsrubbingen	Mitrabhakdi et al., 2005
Hund	Milda i cerebrum och cerebellum. Tidpunkt för MRI-undersökning borde spela en avgörande roll	Undersökning av ryggmärg saknas	Mer viralt RNA och i fler delar av hjärnan än vid paralytisk	Laothamatas et al., 2008

Immunceller

Inom forskarvärlden diskuterar man immunförsvaret som en möjlig faktor i patogenesen vid båda formerna av rabies till exempel genom potentiellt nervskadande.

Immunkompetens påverkan på klinisk form av rabies

Weiland et al. (1992) infekterade möss med virusstammen Evelyn-Rokitnicky-Abelseth, vilken gav den icke-dödliga formen av rabies. Hos immunkompetenta möss skedde en degeneration av myelinsidor och axon i ischiasnerven. Man observerade dessutom litet immuncellsinfiltrat, brist på regenerering av nervceller och virusreplikation i axon. Slutsatsen blev att det finns en korrelation mellan den paralytiska icke-dödliga formen av rabies, låg virusreplikation i de perifera axonerna och immunkompetens hos möss.

Iwasaki et al. (1977) undersökte 135 möss, med avseende på immunsuppression, thymusavsaknad och immunkompetens. De immunkompetenta mössen drabbades i högre utsträckning av paralytisk men överlevde den akuta fasen bättre än de immunsupprimerade mössen. Orsaken till paralytisk var att immunförsvaret skadade parenkymet i CNS, genom cytotoxiska funktioner hos antikroppar och immunceller. Motsatsen nämndes dock kort av Smith et al. (1982) och Sriwanthana et al. (1989), som beskrev att immunkompetenta apor, hamstrar och möss verkar ha avlidit fortare än immunsupprimerade. Detta kom även att gälla för människa vid ett senare skede (Sriwanthana et al. 1989). Däremot visade Smith et al. (1982) att immunsupprimerade möss i större utsträckning avled. Immunsystemet hos hund däremot skyddade snarare djuren från infektionsspridning och gav paralytiska hundar en längre överlevnadstid. Detta torde bero på att immunsvaret kom fortare och i högre grad i CNS hos de paralytiska hundarna (Laothamatas et al., 2008). Motsatsen beskrevs i en studie där sex paralytiska patienter och 22 furiösa humana patienter undersöktes med avseende på cytokinförekomst. Nivåer av S-IL2R testades, eftersom det kan påverka T-cellsaktivering. Ingen signifikant skillnad i S-IL2R-nivåer mellan de två formerna hittades dock men antalet som avvek från medelvärdet i de två grupperna var stort. Därför drogs slutsatsen att immunsvaret kanske inte aktiverades lika väl hos den paralytiska gruppen som hos den furiösa. Eftersom de furiösa patienterna inte överlevde lika länge som de paralytiska, drogs även slutsatsen att ett aktivt immunsvaret kunde påverka sjukdomsförloppet till det sämre. Patogeniciteten påverkas sannolikt av annat än brist på immunsvaret, eftersom även patienterna med paralytisk form avled (Hemachudha et al. 1993).

Immunsuppression och påverkan på klinisk form av rabies

Immunsuppression korrelerades i en studie av Weiland et al. (1992) till hög virusreplikation i ischiasnervens axon och frånvaro av den icke-dödliga paralytiska formen av rabies. Iwasaki et al. (1977) visade att möss som saknade thymus fick samma symptom som immunsupprimerade möss, med undantag för att en mindre omfattande nekros av neuron sågs. Slutsatsen drogs att thymus spelar en roll i parenkymskada vid rabies. Immunsupprimerade och thymusavsaknade möss fick den furiösa formen av rabies. Vid jämförelse av symptom och histopatologisk bild hos de sistnämnda och naturligt infekterade möss med furiös form, sågs en stor likhet, vilket kunde tyda på att virusets påverkan vid naturliga infektioner kan bromsas upp ett tag, så att immunförsvaret inte aktiveras direkt. Dessutom borde immunförsvaret ha haft avsevärt mycket mindre inverkan vid furiös rabies,

eftersom kliniska symptom kunde påvisas även utan antikroppsdetektion (Iwasaki et al. 1977).

Även i en studie av Smith et al. (1982) visades att immunsuppression av infekterade möss ledde till den furiösa formen av rabies. Mössen hade när de avlivades stora mängder virus i CNS, men visade ändå inga synliga tecken på sjukdom dessförinnan. Immunsystemet spelade därför en avgörande roll för patogeniciteten vid furiös rabies. Det föreslogs att en sekundär inflammatorisk reaktion kunde skada infekterade celler, både genom antikroppar och immunceller. Därför behövde det inte vara viruset i sig som orsakade skadan, men detta var också en möjlighet, genom att viruset gav nekros av eller minskad funktion hos nervcellerna.

Immunrespons generellt vid furiös form

Hemachudha et al. (1988) undersökte nio humana patienter med furiös form och sju patienter med paralytisk form. En korrelation mellan proliferation av lymfocyter och symptom fanns som stämde överens med den furiösa formen snarare än med den paralytiska formen, eftersom sex av nio furiösa patienter visade proliferation medan inga paralytiska patienter visade det. Patienterna med den furiösa formen avled dessutom fortare. Man menade dock att fler studier behövs för att kunna avgöra om det finns någon kausalitet mellan de parametrarna ovan och inte bara en korrelation. Det skulle ha varit bättre att testa proliferation av lymfocyter i cerebrospinalvätskan istället för i blodet, eftersom de har mer med rabies att göra och lymfocyterna kanske är mer benägna att reagera i cerebrospinalvätskan (Hemachudha et al., 1988).

Vid en opublicerad studie av den furiösa formen hos hund, som Hemchudha et al. (2006) nämner i sin studie, drog forskarna slutsatsen att en immunrespons föregick av en stor spridning av MRI-förändringar och rabiesvirusgener (snarare än rabiesvirusantigen) i hjärnan, vid furiös rabies. Immunrespons sa de gav starkare limbiska symptom (Hemachudha et al. 2006).

Immunrespons generellt vid paralytisk form

Vilka skador och var skadorna fanns i hjärnan hos en paralytisk human patient beskrivs av Mani et al. (2003). En MRI-undersökning och obduktion gjordes, som visade att det fanns icke-hemorragiska lesioner, vilket kunde bero på att immunsvaret vid paralytisk rabies inte

var lika våldsamt som vid furiös form. Inom furiös rabies sågs generellt ingen inflammation i ryggmärgen (Hemachudha et al. 2006).

T-cellernas funktion

Hemachudha et al. (2006) diskuterade att humana patienter fick den furiösa formen om de har en fungerande T-lymfocytimmunitet och högre koncentration av IL-2 och IL-6 i serum. Dessa patienter dog tidigare än patienter med paralytisk form, i vilka dessa T-cells- och interleukinresponser inte kunde ses på samma sätt (Hemachuda et al. 2006).

Vad gäller betydelsen av CD4- och CD8-celler, kunde inte Hemachudha et al. (1993) dra någon slutsats huruvida en CD8-cellsaktivering skulle påverka sjukdomsförloppet, eftersom det ansågs att CD8-T-celler skulle ha mätts i cerebrospinalvätskan. Weiland et al. (1992) däremot visade att CD4- och CD8-celler hade en betydande roll i patogenesen, genom att testa hur möss utsatta för reduktion av CD4-celler och CD8-celler reagerade på sjukdomen. Resultaten som visas i tabell 3 visade att patogenesen hos den paralytiska, icke-dödliga formen av rabies hos mus härrörde av immunsystemets reaktioner. Dessutom ansågs att förekomst av viruset i sig och skadorna som det orsakade, inte låg till grund för patogeniciteten. Eftersom reduktion av CD8-celler inte påverkade cellinfiltrationen i hjärnan och degeneration av myelinsidor och axon sågs i ischiasnerven, drogs slutsatsen att paralsen orsakades av inflammation i perifera nerver och inte av inflammation i hjärnan. Varken förekomst av CD4- eller CD8-celler bidrog ensamma till den furiösa formens patogenes. Reduktion av CD4-celler krävdes för att furiös form skulle utvecklas medan reduktion av enbart CD8 inte gav furiös form. Alltså kontrollerade CD4 mest den furiösa formen. Eftersom reduktion av enbart CD8 inte gav den paralytiska formen hos mössen, drogs slutsatsen att CD4 inte var den mest framstående av CD4 och CD8 som orsak till den paralytiska icke-dödliga formen av rabies. CD8 måste ha varit den kritiska faktorn i patogenesen vid icke-dödlig paralytisk form. Som orsak till att CD4 ändå behövdes för patogenes, diskuteras möjligheten att CD4 underlättade reaktion av CD8. Dessutom ansågs att den icke-dödliga paralytiska formen med största sannolikhet berodde på immunprocesser snarare än på virusorsakade neuronskador (Weiland et al., 1992).

Tabell 3: Resultaten av en undersökning av betydelsen av CD4 och CD8 (Weiland et al., 1992)

Reduktion av:	Resultat		
	Immuncellsinfiltrat i hjärnan	Förekomst av den icke-dödliga, paralytiska formen	Förekomst av den icke-dödliga furiösa formen
CD4	Mindre	Ingen	Ja
CD8	Oförändrat	Ingen	Ingen
CD4 & CD8	Mindre	Ingen	Ja

Antikroppar

Mitrabhakdi et al. (2005) förklarade att en mekanism bakom paralis skulle kunna vara en antikroppsmedierad komplementberoende attack mot virus i axoner, vilket kunde vara orsaken till att en furiös human patient fick paralis av alla fyra extremiteter efter injektion av rabiesimmunoglobulin i en tidigare studie (Hemachudha et al., 2003). Mitrabhakdi et al. (2005) kunde däremot inte hitta neutraliserande antikroppar i cerebrospinalvätskan hos de paralytiska patienterna. Därför ansågs, utöver antikroppar, fler processer bakom paralis finnas. Även i en annan studie beskrevs att endast låg produktion av antikroppar har hittats i rabiespatienter. Här testades om IL-6-brist kunde vara en orsak. IL-6 hittades inte alls hos de paralytiska patienterna och få av de furiösa patienterna hade IL-6 i serum. Slutsatsen att IL-6 enbart skulle påverka produktionen av antikroppar i detta fall kunde inte dras på grund av resultaten i kontrollgrupperna. En låg halt av IL-6 och en minskning i igenkänning av N-protein kanske kunde ge en låg produktion av antikroppar, främst vid paralytisk form (Hemachudha et al. 1993). I en studie, där totalt sju humana rabiespatienter testades, kunde inte heller slutsatsen dras att antikroppar skulle bidra till patogeniciteten vid furiös rabies, eftersom inga antikroppar hittades i cerebrospinalvätskan (Sriwanthana et al., 1989). Samband mellan mängden virus och mängden antikroppar i delar av hjärnan kunde inte heller hittas vid undersökning av 30 immunkompetenta möss (Iwasaki et al. 1977).

NK-celler

Naturliga dödarcellers (NK-celler) roll har också studerats. I den sammanställande studien av Hemachudha et al. (2006) ansågs en nedsatt funktion hos NK-celler föreligga hos rabiespatienter. En minskad mängd NK-celler än normalt, men ingen minskning i funktionen av NK-svar sågs hos båda formerna i serum i en human studie av Sriwanthana et al. (1989).

Cytokiner

För att avgöra vilka delar av immunförsvaret som medverkar, studeras ofta cytokinprofilen. En större mängd mRNA för vissa cytokiner fanns vid paralytisk än vid furiös form hos hundar och i större grad vid tidigt skede av sjukdomen vid de båda formerna, när tre hundar/rabiesform undersöktes. Därför drogs slutsatsen att uttryck av cytokin-mRNA kan vara ett övergående fenomen. Av tre hundar/rabiesform, fann man att IFN- γ , vilket kunde produceras av T-lymfocyter och IL-1 β bara fanns hos de paralytiska hundarna. Dessutom saknade de furiösa hundarna (tre stycken) IL-2,-4,-8,-10. Dessa resultat och faktumet att man såg en mindre mängd virusantigen hos de paralytiska hundarna, gav slutsatsen att cytokintranskription i hjärnan var omvänt korrelerat mot virusinfektionen i hjärnan. Studiens resultat redovisas i tabell 4 (Laothamatas et al., 2008).

Tabell 4: Vid jämförelse av hundar i det tidiga skedet av sjukdomen. På grund av brist på MRI-bilder från ryggmärgen, kunde forskarna inte dra slutsatser om korrelation mellan de tre parametrarna i tabellen (Laothamatas et al., 2008).

I tidigt skede hos minst två hundar/rabiesform	MRI-förändring i hjärnan	Cytokinproduktionsutslag	Virusinvasion i hjärnan
Paralytisk	Större	Större	Långsammare
Furiös	Mindre	Mindre	Snabbare, mer omfattande

DISKUSSION

Paralytisk form

Mus

Immunkompetenta möss drabbas i högre utsträckning av den paralytiska formen (Iwasaki et al., 1977), vars patogenicitet antagligen beror på skador i ryggmärgsnerver och mer perifera nerver (Park et al., 2006; Weiland et al., 1992). Parenkymet i CNS verkar skadas mest (Smith et al., 1982) och skador i hjärnan kan vara en orsak till denna form, eftersom skador i vissa hjärndelar sågs (Park et al. 2006). Orsaken till skadorna i ryggmärgsnerver och perifera nerver kan vara både av immunceller och virus i sig (Park et al., 2006, Smith et al., 1989; Weiland et al., 1992) men immuncellsmedierade skador spelar förmodligen en större roll än virusmedierade skador för patogeniciteten, eftersom man fann en brist på virusreplikation i axon trots förekomst av skada, vid icke-dödlig paralytisk form (Weiland et al., 1992).

Eftersom få immunceller hittades i perifera axon (Weiland et al., 1992) men immunförsvaret föreslogs vara cytotoxiskt (Iwasaki 1977), kan immunförsvaret spela roll i andra delar av CNS. Exempel på immunceller med en avgörande roll är $CD4^+$ och $CD8^+$ T-lymfocyter, där $CD8^+$ T-lymfocytnärvaro är kritisk för den icke-dödliga paralytiska formen medan $CD4^+$ T-lymfocyter också kan behövas (Weiland et al., 1992). Det är känt att $CD4^+$ T-hjälparceller behövs vid crosspresentation för att aktivera $CD8^+$ T-lymfocyter, som leder till apoptos av virusinfekterade celler, vilket kan vara fallet vid paralytisk form hos mus. För att dra slutsatser om vilka cytokiner som här spelar en avgörande roll och om kausalitet mellan antikroppar och patogenicitet vid paralytisk form, krävs fler studier, men inget tydligt samband hittades mellan antikroppar och mängden virus (Iwasaki et al., 1977). Andra delar av immunförsvaret spelar antagligen in vid patogenesen hos paralytiska möss, men för att klargöra vilka delar, krävs fler studier, med inriktning på kausalitet utöver korrelation mellan skadornas lokalisering, symptom, immunceller och virusantigen eller virusgener.

Människa

Skador sker troligtvis i vissa delar av hjärnan och i motornervcellskroppar i ventralhornet, perifera nerver och nervrötter (Ghosh et al., 2009; Laothamatas et al., 2003; Mitrabhakdi et al., 2005) men tidpunkten för undersökning borde spela en avgörande roll för funna skador, eftersom Mitrabakhdi et al. (2005) såg intakta motornervscellskroppar i ventralhornet, förutom i slutskedet av sjukdomen. Vid undersökning av humana patienter är antalet ofta mycket litet, vilket är problematiskt. Dessutom visar dessa studier att immuncellsinfiltrering skedde av ryggmärg och vid perifera nerver, vilket kan vara orsak till skadorna. Därför är det inte säkert att förslaget av Hemachudha et al. (1988) stämmer, vilket går ut på att immunsvaret hos människa, till skillnad från hos mus, ger den furiösa formen snarare än den paralytiska. Orsaken till hjärnskadorna är oklar, men om samma korrelation finns mellan skador och immunsvaret som hos hund, vilket behöver undersökas vidare, skulle immunsvaret kunna vara orsaken. Vad gäller antikroppar, spelar de antagligen ingen avgörande roll vid patogenes, eftersom inga antikroppar hittades i cerebrospinalvätskan hos paralytiska humana patienter (Hemachudha et al., 1993; Mitrabhakdi et al., 2005). Det är däremot svårt att dra en säker slutsats eftersom injektion av immunoglobulin hos en human furiös patient gav paralys i alla fyra extremiteter (Hemachudha et al. 2003). Dessutom hittades en mindre mängd B-lymfocyter hos humana paralytiska patienter jämfört med furiösa (Sriwanthana et al., 1989). Det är svårt att avgöra vilken roll skadorna i hjärnan spelar, eftersom fler undersökningar med avseende på paralytisk form, virus- och immuncellsförekomst behövs.

Hund

Eftersom samma ställen drabbades i hjärnan vid tidigt skede, som hos människa, och en korrelation fanns till immunsvaret (Laothamatas et al., 2008), skulle immunsvaret kunna vara orsaken till skadorna. Att immunsvaret skulle kunna skydda mot infektionsspridning i kroppen (Laothamatas et al., 2008) och skyddets koppling till symptom, kräver vidare undersökning. Huruvida skadorna i hjärnan bidrar till patogeniciteten kräver även det vidare utredning. Det saknas dessutom undersökning av ryggmärg hos hund, vilket behövs för att kunna dra vidare slutsatser huruvida skador i ryggmärg och i mer perifera nerver, liknande de hos mus, skulle kunna föreligga. Att hundens paralytiska form orsakas av ett ökat immunsvaret, som hos mus och kanske som hos människa, är därför omöjligt att säga, men det går inte att utesluta.

Furiös form

Mus

Det är generellt svårt att avgöra om möss får två olika former, eftersom vissa studier mer hänvisar till avsaknad av paralytisk form vid furiös form och t.ex. encefalopato-genisk rabies (Weiland et al., 1992) än till furiös rabies. Vid avsaknad av paralytisk form fås antagligen skador mer i delar av hjärnan än i ryggmärg, vilka troligtvis bidrar till patogeniciteten. Eftersom skadorna kom före immuncellsinfiltrationen och en korrelation fanns mellan skador och viruslokalisering (Park et al., 2006) orsakar troligtvis virus skadorna snarare än immunsvaret. Till skillnad från den paralytiska formen hos mus där $CD4^+$ - och $CD8^+$ -T-lymfocyter antagligen behövs för patogenesen, är det nog avsaknad av $CD4$ som ger den furiösa formen (Weiland et al., 1992). Att detta stämmer stöds genom att immunsuppression ger furiös form och en ökad dödlighet (Iwasaki et al., 1977; Smith et al., 1982). Eftersom Smith et al. (1982) med hjälp av att bestämma virusmängd och korrelera detta till brist på synliga tecken på sjukdom visade att immunsvaret kunde ge en sekundär skada genom t.ex. antikroppar eller celler, finns antagligen även denna möjlighet vid furiös form. Ytterligare studier med utgångspunkt från t.ex. antikroppar och cytokinhalter hos möss med furiös form, skulle behövas, eftersom bl.a. IL-2 produceras av $CD4^+$ -T-lymfocyter.

Människa

Eftersom skadorna i hjärnan liknar de vid paralytisk form, vid MR-undersökning av sex patienter (Laothamatas et al., 2003) och båda formerna visade förändringar i ventralhornet medan de furiösa patienterna saknade skador i de perifera nerverna och nervrötterna (Ghosh et al., 2009; Mitrabhakdi et al., 2005) kan det som särskiljer den furiösa formen från den paralytiska, vara just den perifera involveringen. Det krävs dock fler studier som stödjer detta för att denna slutsats ska säkerställas. Immunsuppreimerade människor avlider fortare (Sriwanthana et al., 1989) och furiös form förknippas med en snabbare död. Faktumet att Hemachudha et al. (2006) föreslog att T-cellsimmunitet, IL-2 och den furiösa formen hör ihop, motsäger att immunsuppression skulle ge furiös form. Det är väl känt att IL-2 kan produceras av CD4⁺ -T-lymfocyter, vilket skulle kunna vara fallet här. Furiösa patienter hade högre halter av B-lymfocyter i serum (Sriwanthana et al., 1989) vilket kanske kan bero på att IL-2 kan stimulera B-cellsproliferation, vilket skulle betyda att IL-2 skulle kunna ha bildats av T-lymfocyter. Däremot saknades antikroppsdetektion i cerebrospinalvätska, vilket skulle kunna betyda att antikroppar inte spelar en avgörande roll (Sriwanthana et al., 1989). Det är mycket svårt att dra någon slutsats kring vad som ligger bakom processerna vid de olika formerna hos människa. Detta kanske kan bero på att det i studier ingår ett relativt lågt antal personer, men det kan också finnas en möjlighet att studierna skiljer sig åt för mycket med avseende på t.ex. tidpunkt för undersökning, metod (t.ex. histologi- eller MRI-undersökning) eller möjligheten att både formerna kan ses hos människa, men i olika skeden av sjukdomen.

Hund

Eftersom milda förändringar sågs i hjärnan men det saknades undersökning av ryggmärgen och perifera nerver (Laothamatas et al., 2008), är det omöjligt att säga att just hjärnskadorna är orsaken. Att det i samma studie fanns mer viralt RNA i hjärnan än vid paralytisk form, kan betyda att viruset i sig orsakar skadorna, men eftersom det saknas studier på immunrespons i samband med dessa skador, går det inte att klargöra orsaken. Att cytokintranskriptionen var omvänt korrelerad till virusinfektionen i hjärnan (Laothamatas et al., 2008) och det faktum att IL-2 och IFN- γ saknades helt hos furiösa hundar, jämfört med paralytiska, borde kunna bero på avsaknad av T-lymfocytimmunitet vid furiös form. Detta eftersom speciellt CD4⁺ -T-lymfocyter bildar IL-2 och IFN- γ och avsaknad av dessa kan då betyda att en högre virusinfektion i hjärnan sker. Om detta stämmer, finns det likheter i patogenes hos mus och hund. Denna slutsats kan inte dras vad gäller människa.

Förekomst av IL-1 β hos paralytiska hundar, skulle kanske kunna leda till en antikroppsproduktion eftersom det stimulerar det antikroppsmedierade svaret. Dessutom hittades IL-4 och IL-10 hos de paralytiska hundarna, vilket produceras av antikroppsmedierande celler (Th2-celler). Men att antikroppar bildas hos paralytiska hundar har inte visats, utan kräver vidare undersökning (Laothamatas et al., 2008).

Generellt

För att kunna dra slutsatser om hur B-lymfocyter, IL-2, antikroppar, T-lymfocyter påverkar patogenesen vid de båda formerna hos hund, mus men även hos människa, skulle fler studier som innefattar mätning av halter av dessa i både serum och cerebrospinalvätska samt T-lymfocythalter i hjärna, ryggmärg och PNS behövas.

Det saknas studier på NK-cellernas roll i rabiespatogenesen hos de olika formerna. De skulle möjligtvis kunna ha en nedsatt funktion vid rabies generellt, men det är oklart om NK-svaret i stort drabbas av detta. För att kunna dra en slutsats om T-lymfocyternas roll kan det vara viktigt att tänka på mängden som tar sig över blodhjärnbarriären, eftersom denna är begränsad.

Vilka delar av hjärnan som drabbas verkar inte avgöra vilken form som fås och skiljer sig inte nämnvärt mellan de olika arterna. Däremot spelar sannolikt tidpunkten för undersökning en avgörande roll. För att kunna reda ut vilka delar av CNS som drabbas hos mus, hund och människa, krävs antagligen jämförande studier då till exempel MRI tas vid samma tidpunkt, (hos människa) och tidpunkten spelade roll för MRI (Laothamatas et al., 2008). Det är dock omöjligt att utföra experimentella studier på människa, vilket begränsar forskningen.

Det är även svårt att dra några generella slutsatser utifrån de olika studierna i detta arbete, eftersom det sällan redovisas för på vilka grunder man har klassat de olika patienterna. Detta borde spela en avgörande roll i vilka slutsatser som dras om de olika formerna.

I studierna finns oftast ett mycket begränsat antal patienter, speciellt vad gäller hund och människa, vilket begränsar möjlighet till utredning. Dessutom dras ofta slutsatser som är mer generella och inte specifika för olika djurslag, vilket kanske kan bero på att det inte anses finnas någon skillnad mellan olika arter, men detta är inte helt klarlagt än.

Förutom immunförsvaret och viruset i sig, behöver även andra teorier bakom patogenesen undersökas vidare, t.ex. injektionsplats/bettplats, viruslokalisering, virusstammar och spridning i kroppen.

Eftersom många studier motsäger varandra, skulle man behöva undersöka om de två formerna kan förekomma hos en och samma patient, men vid olika tidpunkter. Att de är olika stadier av sjukdomen, som alltså kan förekomma hos samma patient men som inte behöver drabba alla, stöds även av L. Treiberg Berndtsson (Statens Veterinärmedicinska Anstalt, pers. medd. 2012-03-19). Vilka djur som används, till exempel gatuhundar jämfört med försökshundar, kan dessutom möjligen påverka resultat i studier.

REFERENSLISTA

Ghosh, J.B., Roy, M., Lahiri, K., Bala, A.K.. (2009). Acute flaccid paralysis due to rabies. *Journal of Pediatric Sciences*, 4, 33-35

Hemachudha, T., Phanuphak, P., Sriwanthana, B., Manutsathit, S., Phanthumchinda, K., Siriprasomsup, W., Ukachoke, C., Rasameechan, S., Kaoroptham, S. (1988). Immunologic study of human encephalitic and paralytic rabies. *The American Journal of Medicine*, 84, 673-677

Hemachudha, T., Panpanich, T., Phanuphak, P., Manatsathit, S., Wilde, H. (1993). Immune activation in human rabies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87, 106-108

Hemachudha, T., Sunsaneewitayakul, B., Mitrabhakdi, E., Suankratay, C., Laothamathas, J., Wacharapluesadee, S., Khawplod, P., Wilde, H. (2003). Paralytic complications following intravenous rabies immune globulin treatment in a patient with furious rabies. *International journal of infectious diseases*, 7, 76-77

Hemachudha, T., Wacharapluesadee, S., Laothamatas, J., Wilde, H. (2006). Rabies. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 6, 460-468

Hu, R.L., Fooks, A.R., Zhang, S.F., Liu, Y. (2008). Inferior rabies vaccine quality and low immunization coverage in dogs (*Canis familiaris*) in China. *Epidemiology and Infection*, 136, 1556-1563

Iwasaki, Y., Gerhard, W., Clark, H.F. (1977). Role of host immune response in the development of either encephalitic or paralytic disease after experimental rabies infection in mice. *Infection and Immunity*, 18(1), 220

Jackson, A.C. & Reimer, D.L. (1989). Pathogenesis of experimental rabies in mice: an immunohistochemical study. *Acta Neuropathologica*, 78, 159-165

Laothamatas, J., Hemachudha, T., Mitrabhakdi, E., Wannakrairot, P., Tulayadaechanont, S. (2003). MR imaging in human rabies. *American Journal of Neuroradiology*, 24, 1102-1109

Laothamatas, J., Wacharapluesadee, S., Lumlerdacha, B., Ampawong, S., Tepsumethanon, V., Shuangshoti, S., Phumesin, P., Asavaphatiboon, S., Worapruekjaru, L., Avihingsanon, Y., Israsena, N., Lafon, M., Wilde, H., Hemachudha, T. (2008). Furious and paralytic rabies of canine origin: Neuroimaging with virological and cytokine studies. *Journal of NeuroVirology*, 14, 119-129

Laothamatas, J., Sungkarat, W., Hemachudha, T. (2011). Neuroimaging in rabies. *Advances in Virus Research*, 79, 309-327

Madhusudana, S.N. & Sukumaran, S.M. (2008). Antemortem diagnosis and prevention of human rabies. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 11(1), 3-12

Mani, J., Reddy, B.C., Borgohain, R., Sitajayalakshmi, S., Sundaram, C., Mohandas, S. (2003). Magnetic resonance imaging in rabies. *Postgraduate Medical Journal*, 79, 352-354

Manickam, R., Basheer, M.D., Jayakumar, R. (2008). Post-exposure prophylaxis (PEP) of rabies-infected Indian street dogs. *Vaccine*, 26, 6564-6568

Mitrabhakdi, E., Shuangshoti, S., Wannakrairot, P., Lewis, R.A., Susuki, K., Laothamatas, J., Hemachudha, T. (2005). Difference in neuropathogenetic mechanisms in human furious and paralytic rabies. *Journal of Neurological Sciences*, 238, 3-10

Park, C.H., Kondo, M., Inoue, S., Noguchi, A., Oyamada, T., Yoshikawa, H., Yamada, A. (2006). The histopathogenesis of paralytic rabies in six-week-old C57BL/6J mice following inoculation of the CVS-11 strain into the right triceps surae muscle. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 68(6), 589-595

Smith, J.S., McCelland, F.L., Reid, F.L., Baer, G.M. (1982). Dual role of the immune response in street rabiesvirus infection of mice. *Infection and Immunity*, 35(1), 213

Sriwanthana, B., Hemachudha, T., Griffin, D.E., Manutsathit, S., Twardy, D., Phanuphak, P. (1989). Lymphocyte subsets in human encephalitic and paralytic rabies. *Acta Neurologica Scandinavica*, 80, 287-289

Weiland, F., Cox, J.H., Meyer, S., Dahme, E., Reddehase, M.J. (1992). Rabies virus neuritic paralysis: immunopathogenesis of nonfatal paralytic rabies. *Journal of Virology*, 66(8), 5096

World Health Organisation. WHO expert consultation on rabies. [online] (2004-10-08)

Tillgänglig: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_931_eng.pdf . [2012-03-08]